

Figure 1

ZFP1	F3: RSDNLAR		F2: RSDELRT		F1: DRSNLTR			Target	K _d (nM)
	G	A	G	T	C	G	A		
Target								Cognate	50
Selected	G14	A12	G11	T6	G11	G12	A10	C11	12.5
	G2	C2	T3	C4	T1	T1	G2	G2	> 400
		T1	C1	G4	A1	C1	T1	A1	
							C1		

ZFP2	F3: RSDHLSR	F2: QSSHLAR	F1: QSSDLRR	Target	K_d (nM)
Target	G G G	G G T	G C T		
Selected	G11 G7	G11G12 G10 A5	G10 C12 T6	Cognate	1
	T1 T3 T1	A2 T3	T1 C2	Mt-3	0.5
	A2	C3	C1 G2	Mt-4	1
		G1	A2		

Figure 2

GAG	F1: RSDNLAR	F2: RSDNLAR	F3: RSDNLTR	GAT	F1: QSSNLAR	F2: TSGNLVR	F3: TSANLSR
5'-3'	G A G	G A G	G A G	5'-3'	G A T	G A T	G A T
	G22 A22 G21 A1	G24 A23 G24 T1	G16 A15 G16 G1		G14 A10 T9 G2 G2 C2 A2 C1	G14 A12 T12 G1 G2 T1	G18 A18 T18
GGG	F1: RSDHLAR	F2: RSDHLAR	F3: RSDHLAR	GAC	F1: DRSNLTR	F2: DRSNLTR	F3: DRSNLTR
5'-3'	G G G	G G G	G G G	5'-3'	G A C	G A C	G A C
	G14 G11 G12 A2 A1 C1 C1	G19 G11 G19 A6 C1 T1	G15 G14 G14 T1 C1		G12 A10 C11 T1 G2 G2 C1 T1 A1 C1	G15 A15 C12 T2 G1	G16 A11 C11 T2 C4 A6 C1 G3 G1 T1 T1
GTG	F1: RSDALTR	F2: RSDALSR	F3: RSDALTR	GGA	F1: QSGHLAR	F2: QSGHLQR	F3: QSGHLQR
5'-3'	G T G	G T G	G T G	5'-3'	G G A	G G A	G G A
	G15 T14 G15 G1	G15 T12 G15 G2 A1	G14 T13 G12 G1 T2		G15 G15 A10 G3 T2	G17 G13 A13 A2 G3 C2 T1	G14 G14 A14
GCG	F1: RSDDLTR	F2: RSDDLQR	F3: RSDDLTR	GGT	F1: QSSHLTR	F2: TSGHLAR	F3: TSGHLVR
5'-3'	G C G	G C G	G C G	5'-3'	G G T	G G T	G G T
	G13 C11 G14 T1 T3	G21 C18 G21 G2 T1	G18 C16 G16 G2 T1 C1		G17 G16 T12 A1 C4 A1	G17 G14 T16 A2 G1 C1	G16 G15 T14 T1 T2 G4 C1 A1
GCA	F1: QSGSLTR	F2: QSGDLTR	F3: QSGDLTR	GGC	F1: DRSHLTR	F2: DRSHLAR	F3: DRSHLAR
5'-3'	G C A	G C A	G C A	5'-3'	G G C	G G C	G G C
	G17 C12 A12 G3 T2 T2 G2 C1	G19 C18 A18 G1 C1	G7 C7 A6 A2 G1 T3 T1		G15 G12 C9 A2 T4 T1 G2	G13 G10 C7 A3 T3 A2 C1	G13 G14 T6 A1 T1 C3 A3 G3
GCT	F1: QSSDLTR	F2: QSSDLTR	F3: QSSDLQR	GTA	F1: QSGALTR	F2: QSGALAR	F3: QRASLTR
5'-3'	G C T	G C T	G C T	5'-3'	G T A	G T A	G T A
	G19 C19 T16 G3	G15 C15 T15	G10 C17 T10 A9 T1 G7 G1 A2		G11 T7 A7 A2 G2 G1 T2 C1	G10 T6 A9 A3 G1 G1	G5 G4 A5 A4 T3 G3 A1 T1 C1
GCC	F1: ERGTLAR	F2: DRSDLTR	F3: DRSDLTR	GTT	F1: TTSALTR	F2: TSGALTR	F3: QSSALTR
5'-3'	G C C	G C C	G C C	5'-3'	G T T	G T T	G T T
	G19 C12 C11 T4 G3 A3 C3 T2	G20 C20 C13 T7	G17 C13 C13 A1 A2 T3 G2 A2 T1		G21 T16 G8 G3 T6 A1 C4 C1 A3	G9 T8 G5 A1 T4	G5 T2 T3 A1 G2 A3 A1 C1
GAA	F1: QRSNLVR	F2: QSGNLAR	F3: QSGNLAR	GTC	F1: DRSALAR	F2: DRSALAR	F3: DRSALAR
5'-3'	G A A	G A A	G A A	5'-3'	G T C	G T C	G T C
	G19 A19 A10 T6 G3	G11 A10 A10 T1 G1	G8 A8 A6 A1 G1 G3		G14 T7 C9 A5 T2 G2 A2 G1	G15 T11 C9 T1 A3 T6 G1 A1 C1	G13 T7 C6 G5 G6 C1 T1

Figure 3

A

Design	F1: OSGDLTR	F2: OSGDLTR	F3: OSGDLTR
Target	G C A	G C A	G C A
5'-3'	G19 C16 T13 G2 G2 T1 A2 C2	G19 C18 A18 G1 C1	G7 C7 A6 A2 G1 T3 T1

B

Design	F1: OSSNLAR	F2: OSSNLAR	F3: OSSNLAR
Target	G A T	G A T	G A T
5'-3'	G14 A10 T9 G2 G2 C2 A2 C1	G17 A17 A10 T5 G2	G21 A18 A11 G2 T9 C1 G1
Design	F1: TSGNLVR	F2: TSGNLVR	F3: TSANLSR
Target	G A T	G A T	G A T
5'-3'	G7 A5 T4 A3 C4 G3 T1 T2 C1 C1	G14 A12 T12 G1 G2 T1	G18 A18 T18

C

Design	F1: OSSHLTR	F2: OSSHLAR	F3: OSSHLAR
Target	G G T	G G T	G G T
5'-3'	G17 G16 T12 A1 C4 A1	G18 G18 A16 T2	G13 G13 A7 A2 A1 T4 T1 G4
Design	F1: TSGHLVR	F2: TSGHLVR	F3: TSGHLVR
Target	G G T	G G T	G G T
5'-3'	G18 G13 A9 T2 T4 T5 A2 C5 C1 C1	G17 G17 T16 C1	G16 G15 T14 T1 T2 G4 C1 A1

TOCTT-1666660

Figure 4

A

EP2C	F3: RSDERKR F2: RSDALSR F1: QSSDLTR								
Target	G	C	G	G	T	G	G	C	T
K _d , 2 nM	G19	T10	G19	G19	T18	G19	G19	C19	T16
		C9			C1				G3

B

Name	Target	K _d (nM)	Luc/β-gal	
pGL3			0.4	
2C0	GCG GTG GCT	2	66.1	
2C1	<u>G</u> AG GTG GCT	4	31.8	
2C2	G <u>T</u> G GTG GCT	2	62.4	
2C3	GCG G <u>G</u> G GCT	31	3.3	
2C4	GCG GTG G <u>A</u> T	7.8	14.4	
2C5	GCG GTG G <u>C</u> G	4	48.6	
3B	GGT GAG GAG		0.8	

Luciferase/β-gal activity

093994-12001